

Perjanjian No: III/LPPM/2014-03/10-P

EKSTRAKSI ANTIOKSIDAN DAN SENYAWA AKTIF
DARI BUAH KIWI (*Actinidia deliciosa*)



Disusun Oleh:
H. Maria Ingrid, Dra., Msc
Herry Santoso, ST., M.T.M., PhD

Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat
Universitas Katolik Parahyangan
2014

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
DAFTAR ISI	ii
DAFTAR GAMBAR.....	iv
DAFTAR TABEL	v
ABSTRAK	vi
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Tujuan Penelitian.....	2
1.3 Tema Sentral Masalah	2
1.4 Urgensi Penelitian	2
1.5 Hipotesis	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Tanaman Buah Kiwi.....	4
2.1.1 Sifat Fisik Tanaman.....	5
2.1.2 Manfaat Buah Kiwi	6
2.1.3 Fitokimia pada Buah Kiwi.....	7
2.2 Antioksidan.....	9
2.2.1 Pengertian Antioksidan.....	9
2.2.2 Klasifikasi Antioksidan	9
2.2.3 Jenis Antioksidan.....	10
2.2.4 Mekanisme Kerja Antioksidan	14
2.3 Analisis Senyawa Aktif Buah Kiwi.....	15
BAB III METODE PENELITIAN	17
3.1 Bahan dan Alat	17
3.2 Metode Penelitian	18
3.3 Prosedur Penelitian	18
3.3.1 Persiapan bahan baku.	19
3.3.2 Ekstraksi buah kiwi	19
3.4 Analisis	20
3.5 Rancangan Percobaan.....	22

BAB IV JADWAL PELAKSANAAN.....	23
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN	
5.1 Aktivitas Antioksidan	24
5.2 Pengaruh Temperatur dan F:S Terhadap Rendemen.....	26
5.3 Uji Fitokimia	27
5.4 Kadar Flavonoid	28
5.5 Kadar Fenolik Total	30
5.6 Analisis Vitamin C	32
5.7 Kadar Klorofil	32
5.8 Analisis GCMS	33
BAB VI KESIMPULAN	36
DAFTAR PUSTAKA	37

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Buah kiwi	4
Gambar 2.2	Biji buah kiwi.....	4
Gambar 2.3	Polifenol yang terdapat pada buah Kiwi.....	8
Gambar 2.4	Quercitrin dan kaempferol pada biji buah kiwi	8
Gambar 2.5	Struktur kimia vitamin C.....	10
Gambar 2.6	Struktur flavonoid	11
Gambar 2.7	Struktur flavon-3-ol	12
Gambar 2.8	Struktur kimia polifenol	13
Gambar 2.9	Struktur kimia β tokoferol	13
Gambar 2.10	Reaksi Penghambatan Radikal DPPH	15
Gambar 2.11	Reaksi Uji Flavonoid	16
Gambar 3.1	Rangkaian Ekstraktor.....	17
Gambar 3.2	Diagram Alir Percobaan	18
Gambar 3.3	Diagram Alir Persiapan Bahan Baku	19
Gambar 3.4	Diagram Alir Ekstraksi Buah Kiwi	20
Gambar 5.1	Pengaruh F:S dan Temperatur Terhadap Respon IC50	25
Gambar 5.2	Pengaruh F:S dan Temperatur Terhadap rendemen	26
Gambar 5.3	Pengaruh F:S dan Temperatur Terhadap Kadar Flavonoid.....	29
Gambar 5.4	Pengaruh F:S dan Temperatur Terhadap Kadar Fenolik	31
Gambar 5.5	Kromatogram Ekstrak Kiwi dengan GCMS.....	34

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Negara produsen buah kiwi	5
Tabel 2.2	Komposisi 100 gram buah kiwi	6
Tabel 4.1	Jadwal Pelaksanaan Penelitian	23
Tabel 5.1	Perolehan nilai IC50 (mg/L) dan rendemen	24
Tabel 5.2	Hasil perhitungan ANOVA Pengaruh F:S dan Temperatur Terhadap Respon IC50	25
Tabel 5.3	Hasil perhitungan ANOVA Pengaruh F:S dan Temperatur Terhadap Respon Rendemen	27
Tabel 5.4	Hasil Uji Fitokimia	27
Tabel 5.5	Perolehan Kadar Flavonoid (mg/100 g)	28
Tabel 5.6	Hasil Perhitungan ANOVA Pengaruh F:S dan Temperatur Terhadap Kadar Flavonoid.....	29
Tabel 5.7	Perolehan Kadar Fenolik Total (mg/100g)	30
Tabel 5.8	Hasil Perhitungan ANOVA Pengaruh F:S dan Temperatur Terhadap Kadar Fenolik	31
Tabel 5.9	Hasil Analisis Ekstrak Kiwi dengan GSMS.....	34

ABSTRAK

Antioksidan adalah senyawa organik yang dapat meredam radikal bebas dalam tubuh manusia. Hasil penelitian menunjukkan bahwa beberapa ekstrak tanaman memiliki senyawa antioksidan fenolik, flavonoid yang lebih efektif dan lebih aman dari pada antioksidan sintesis, seperti *butylated hydroxytoluene*. Buah kiwi memiliki kadar antioksidan dan nilai gizi yang tinggi, kaya akan vitamin C, sehingga berpotensi untuk dikembangkan dan dimanfaatkan sebagai produk pangan, pengawet makanan alami, suplemen makanan, kosmetik dan obat-obatan. Antioksidan pada buah kiwi diketahui memiliki kemampuan sebagai anti inflamasi, mencegah kanker dan hepatitis.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengekstraksi antioksidan dan komponen bioaktif pada buah kiwi dengan pelarut etanol, mempelajari kondisi ekstraksi optimum yang dapat menghasilkan aktivitas antioksidan tertinggi, serta menganalisis kandungan komponen aktif pada ekstrak buah kiwi. Metode yang digunakan adalah ekstraksi padat cair dengan perbandingan umpan pelarut (F:S) 1:10, 1:15, 1:20 pada temperatur ekstraksi 30°C, 40°C dan 50°C. Hasil analisis dapat disimpulkan bahwa rendemen tertinggi adalah 86,8% diperoleh pada rasio massa umpan pelarut 1:20 dan temperatur 50°C, aktivitas antioksidan tertinggi dalam IC₅₀ terhadap DPPH sebesar 7,2 mg/L pada F:S 1:10 dan temperatur 40°C. Kadar flavonoid tertinggi adalah 147,7 mg/100g, kadar fenolik 224,9 mg/100g, kadar vitamin C adalah 7,7 mg/g dan kadar total klorofil 10,2 ppm. Hasil analisis dengan gas kromatografi mass spektrofotometri menunjukkan komponen yang terdapat pada ekstrak buah kiwi *Quinic Acid (1,3,4,5-tetrahydroxycyclohexanecarboxylic acid)*, *2-Furancarboxaldehyde, 5-(hydroxymethyl)-CAS HMF*, *1,3-Dihydroxy-4-hexene*, *Patchouli alcohol*.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Di Indonesia, kesehatan merupakan masalah yang cukup serius. Banyak penyakit yang disebabkan oleh radikal bebas, radikal bebas dapat mengoksidasi asam nukleat, protein, lipid sehingga menginisiasi terjadinya degeneratif dan kerusakan sel.

Faktor lingkungan seperti polusi, intensitas sinar uv yang berlebih, suhu, bahan kimia, dan kekurangan gizi dapat mengakibatkan tubuh manusia terpapar radikal bebas, bila radikal bebas berlebihan, akan menciptakan ketidakseimbangan antara molekul radikal bebas dan antioksidan endogen. Ketika jumlah radikal bebas melebihi kapasitas tubuh untuk menetralsirnya, maka terbentuk stres oksidatif yang menyebabkan kerusakan struktur sel, jaringan dan organ (Vierkotter, dkk, 2009).

Radikal bebas adalah molekul yang mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbital terluarnya, radikal bebas sangat reaktif dan tidak stabil, sebagai usaha untuk mencapai kestabilannya radikal bebas akan bereaksi dengan atom atau molekul di sekitarnya untuk memperoleh pasangan elektron. Reaksi ini berlangsung terus menerus dalam tubuh, dan menimbulkan reaksi berantai yang mampu merusak struktur sel,¹² bila tidak dihentikan akan menimbulkan berbagai penyakit seperti kanker, jantung, katarak, penuaan dini, serta penyakit degeneratif lainnya.

Untuk meredam aktivitas radikal bebas diperlukan antioksidan. Antioksidan adalah molekul yang dapat mendonorkan elektronnya kepada molekul radikal bebas, sehingga menghentikan reaksi berantai tersebut.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa beberapa ekstrak tanaman memiliki senyawa antioksidan seperti fenolik, flavonoid yang lebih efektif dan lebih aman daripada antioksidan sintetis, seperti *butylated hydroxytoluene*. Antioksidan asam fenolat, polifenol, flavonoid menghambat radikal peroksida, hidroperoksida atau *lipid peroxyl*, menghambat mekanisme oksidatif, sehingga mencegah penyakit degeneratif, selain itu berguna sebagai anti tumor dan mempunyai efek pencegahan pada kerusakan hati. Flavonoid memiliki kemampuan anti-inflamasi dan antioksidan yang terbukti mampu menghambat proses stres oksidatif pada penyakit kardiovaskular dan neurodegeneratif.

Antioksidan dapat dimanfaatkan pada produk pangan sebagai aditif untuk mencegah kerusakan akibat oksidasi, diantaranya untuk mencegah oksidasi lipid, perubahan warna dan aroma pada pangan, selain itu antioksidan juga dapat berperan sebagai pengawet pangan.

Salah satu alternatif antioksidan alami yang cukup potensial adalah buah kiwi (*Actinidia*). Buah kiwi memiliki kadar antioksidan dan nilai gizi yang tinggi, kaya akan vitamin C, serat, kalsium, zat besi, fosfor dan kalium, selain itu buah kiwi merupakan sumber flavonoid yang baik. Buah kiwi memiliki aktivitas antioksidan dan kandungan fenolik yang lebih tinggi dari stroberi, jambu batu, pepaya dan belimbing. Antioksidan pada buah kiwi antara lain vitamin C, klorofil a dan b, β karoten, dan beberapa senyawa fenolik.

Berdasarkan potensi yang dimiliki buah kiwi sebagai antioksidan alami dan mengandung komponen yang bioaktif (flavonoid, fenol), maka perlu dipelajari lebih lanjut proses ekstraksi antioksidan dan senyawa aktif pada buah kiwi, sehingga dapat dimanfaatkan pada berbagai produk makanan dan suplemen kesehatan.

1.2 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah:

1. Mengekstraksi antioksidan pada buah kiwi dengan variasi rasio umpan terhadap pelarut dan temperatur ekstraksi.
2. Menguji aktivitas antioksidan dengan menggunakan DPPH (1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl) sebagai radikal bebas.
3. Mempelajari dan menganalisis komponen aktif dalam ekstrak buah kiwi.

1.3 Tema Sentral Masalah

Tema sentral masalah penelitian ini adalah mencari kondisi ekstraksi optimum dari buah kiwi yang dapat menghasilkan aktivitas antioksidan tertinggi dengan menggunakan variasi rasio massa umpan pelarut dan temperatur ekstraksi, selain itu melakukan analisis komponen aktif pada ekstrak buah kiwi.

1.4 Urgensi Penelitian

Kiwi (*Actinidia*) adalah tanaman yang banyak mengandung senyawa fitokimia seperti flavonoid, triterpenoid, dan quinone, (Shastri,2012) selain itu buah kiwi

memiliki kadar antioksidan dan nilai gizi yang tinggi, kaya akan vitamin C, serat, kalsium, zat besi, fosfor dan kalium, buah kiwi memiliki aktivitas antioksidan dan kandungan fenolik yang lebih tinggi dari stroberi, jambu batu, pepaya dan belimbing.

Berdasarkan potensi yang dimiliki buah kiwi sebagai antioksidan alami dan mengandung komponen bioaktif serta dapat mencegah berbagai penyakit, maka perlu dipelajari kondisi ekstraksi optimum yang dapat menghasilkan aktivitas antioksidan tertinggi, serta menganalisis kandungan komponen aktif pada ekstrak buah kiwi, sehingga dapat dikembangkan dan dimanfaatkan pada berbagai produk pangan, pengawet makanan alami dan suplemen makanan yang dapat menghambat radikal bebas pada tubuh manusia, untuk mencegah berbagai penyakit.

Tujuan jangka panjang adalah buah kiwi dapat dibudidayakan secara luas, sehingga dapat dikemas dengan harga ekonomis sebagai pengawet pangan, kosmetik, dan produk pangan yang menyehatkan, seperti teh dan *chrysanthemum*. Dengan demikian pemanfaatan ekstrak buah kiwi yang kaya antioksidan untuk meredam berbagai penyakit dapat tercapai.

1.5 Hipotesis

Berdasarkan studi pustaka dapat ditarik beberapa hipotesis pada ekstraksi antioksidan dalam buah kiwi, yaitu :

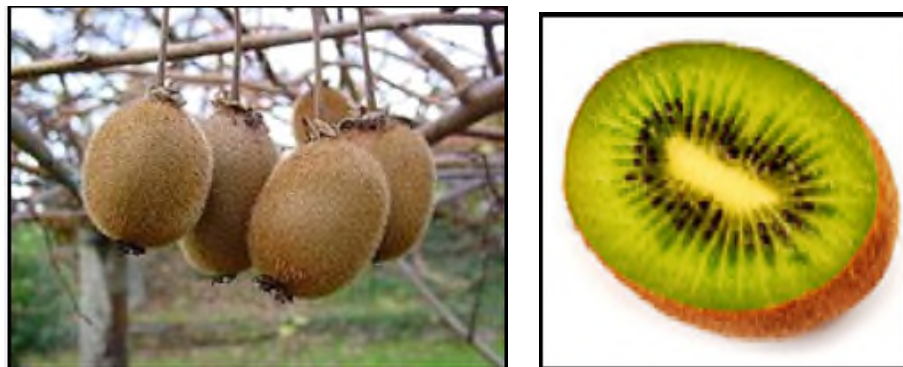
1. Jenis pelarut mempengaruhi aktivitas antioksidan, kadar klorofil total, kadar fenolik total dan kadar flavonoid dalam proses ekstraksi antioksidan pada buah kiwi.
2. Rasio F:S mempengaruhi aktivitas antioksidan, kadar klorofil total, kadar fenolik total dan kadar flavonoid dalam proses ekstraksi antioksidan pada buah kiwi.
3. Temperatur ekstraksi mempengaruhi aktivitas antioksidan, kadar klorofil total, kadar fenolik total dan kadar flavonoid dalam proses ekstraksi antioksidan pada buah kiwi.
4. Interaksi jenis pelarut, rasio F:S dan temperatur ekstraksi mempengaruhi aktivitas antioksidan dan kandungan komponen senyawa aktif pada buah kiwi.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Buah Kiwi (*Actinidia deliciosa*)

Buah kiwi (*Actinidia deliciosa*) mulai dibudidayakan pada tahun 1970 dan saat ini Jepang memproduksi 40.000 ton buah kiwi per tahun. Selandia Baru merupakan negara eksportir utama buah kiwi. Buah tersebut diberi nama kiwi karena kulitnya menyerupai bulu burung kiwi, burung nasional Selandia Baru. Buah kiwi berbentuk oval dengan panjang kira-kira 5-8 cm, diameter 4-6 cm. Kulit buah kiwi berwarna coklat hijau. Buah kiwi mempunyai tekstur yang lembut dan memiliki aroma yang unik (gambar 2.1). Buah kiwi tumbuh di lereng pegunungan kawasan hutan atau di antara semak-semak pohon yang rendah (Oryza, 2011), memiliki lebih dari 60 spesies dari genus *Actinidia* (Ferguson, 1990). Spesies buah kiwi yang paling umum di dunia adalah *Actinidia deliciosa* dan *Actinidia chinensis* (Rassam dan Laing, 2005).



Gambar 2.1 Buah kiwi

(Sumber: Shastri, 2012)



Gambar 2.2 Biji buah kiwi

(Sumber: Oryza, 2011)

Taksonomi tanaman kiwi (*Actinidia*) dapat diklasifikasikan sebagai berikut (Ferguson,1990):

Kingdom : *Plantae* (Tumbuhan)
Subkingdom : *Tracheobionta* (Tumbuhan berpembuluh)
Super Divisi : *Spermatophyta* (Menghasilkan biji)
Divisi : *Magnoliophyta* (Tumbuhan berbunga)
Kelas : *Magnoliopsida* (Berkeping dua / dikotil)
Sub Kelas : *Magnoliidae*
Ordo : *Ericales*
Famili : *Actinidiaceae*
Genus : *Actinidia*
Spesies : *Actinidia deliciosa*

Warna daging buah kiwi dapat berwarna hijau, merah, ungu, kuning, atau oranye. Namun sampai saat ini hanya buah kiwi hijau (*Actinidia deliciosa*) yang dibudidayakan secara komersial. Berikut ini adalah beberapa negara produsen buah kiwi di dunia:

Tabel 2.1 Negara produsen buah kiwi

(Sumber: *UN COMTRADE Database*, 2009)

Negara	Volum (metrik ton)
Spanyol	137615
Belgia	133193
Jerman	120104
Belanda	65142
Rusia	64910
Perancis	63134
Jepang	58501
Italia	54747
Amerika Serikat	53550
Inggris	37055
Seluruh dunia	1189930

2.1.1 Sifat Fisik Tanaman

Tanaman buah kiwi merupakan jenis tanaman merambat dengan panjang mencapai 9 m. Tanaman ini dapat memanjat tanaman lainnya untuk menopang dan bersifat epifit. Buah kiwi membutuhkan waktu kira-kira 25 minggu dari bunga mekar sampai mencapai kematangan fisiologis. Konsentrasi padatan terlarut internal (SSC) digunakan sebagai

indeks kematangan untuk buah kiwi di Selandia baru dan Chili (Beever dan Hopkirk, 1990). Nilai minimal SSC di Selandia baru adalah 6,2%. Berikut adalah komposisi 100 gram buah kiwi disajikan pada tabel 2.2.

Tabel 2.2 Komposisi 100 gram buah kiwi (Sumber: Shastri, 2012)

Energi	255 kj
Karbohidrat	14,66 g
Gula	8,99 g
Serat	3 g
Lemak	0,52 g
Protein	1,14 g
Lutein dan zeaxanthin	122 µg
Thiamin (vitamin B1)	0,027 mg
Riboflavin (vitamin B2)	0,025 mg
Niasin (vitamin B3)	0,341 mg
Vitamin B6	0,63 mg
Folat (vitamin B9)	25 µg
Vitamin C	92,7 mg
Vitamin E	1,5 mg
Vitamin K	40,3 µg
Kalsium	34 mg
Besi	0,31 mg
Magnesium	17 mg
Natrium	3 mg
Zinc	0,14 mg
Mangan	0,098 mg
Air	83,05 g

2.1.2 Manfaat Buah Kiwi

Berbagai penelitian telah dilakukan terhadap antioksidan pada buah kiwi karena kemampuannya melindungi DNA di dalam inti sel manusia dari kerusakan akibat radikal bebas, untuk menghambat penuaan dini dan beberapa jenis penyakit degeneratif, untuk mencegah kanker dan kardiovaskuler; penyumbatan pembuluh darah, stroke dan tekanan

darah tinggi; gagal ginjal; diabetes; katarak dan glukoma. Antioksidan pada buah kiwi antara lain vitamin C, β karoten, klorofil a dan b dan beberapa senyawa flavonoid. Buah kiwi mengandung banyak fitonutrien serta vitamin dan mineral yang baik untuk kesehatan. Berikut adalah beberapa manfaat mengkonsumsi buah kiwi (whofoods, 2012):

1. Serat sebagai pengendali gula darah

Buah kiwi termasuk buah yang memiliki banyak serat. Para peneliti telah menemukan bahwa diet yang mengandung banyak serat dapat menurunkan kadar kolesterol tinggi, sehingga mengurangi risiko serangan jantung. Serat juga baik untuk membantu mencegah kanker usus besar. Selain itu, serat pada buah kiwi baik untuk menjaga kadar gula darah penderita diabetes.

2. Mencegah asma

Konsumsi vitamin C yang banyak terdapat pada buah-buahan seperti kiwi dapat memberikan pengaruh perlindungan yang signifikan terhadap gejala pernapasan yang terkait dengan asma.

3. Perlindungan terhadap degenerasi makula

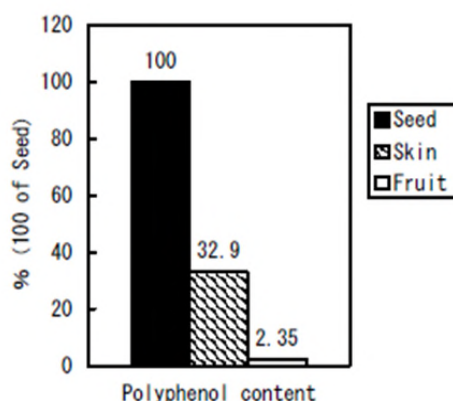
Data sebuah penelitian yang diterbitkan dalam *Archives of Opthamology* menunjukkan bahwa konsumsi tiga butir atau lebih buah kiwi per hari dapat menurunkan risiko yang berkaitan dengan usia degenerasi makula (ARMD), yaitu penyebab utama kehilangan penglihatan pada orang dewasa yang lebih tua.

4. Mengurangi kadar lemak darah

Mengkonsumsi beberapa buah kiwi setiap hari secara signifikan dapat menurunkan resiko pembekuan darah dan mengurangi kadar lemak (trigliserida) dalam darah sehingga membantu melindungi kesehatan jantung. Tidak seperti aspirin yang membantu mengurangi pembekuan darah, tetapi memiliki efek samping seperti peradangan dan perdarahan di saluran pencernaan.

2.1.3 Fitokimia pada Buah Kiwi

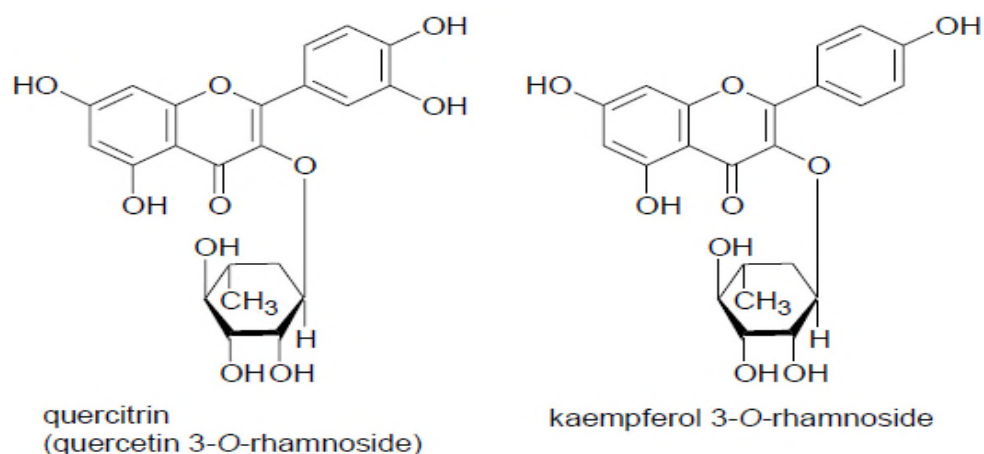
Buah kiwi dengan berbagai manfaatnya, telah diolah lebih lanjut menjadi produk – produk kesehatan. Produk tersebut berasal dari ekstrak kulit, daging maupun biji buah kiwi. Biji kiwi adalah salah satu produk ekstraksi buah kiwi yang cukup banyak penggunaannya. Minyak biji buah Kiwi mengandung rata-rata 62% asam α -linolenat.



Gambar 2.3 Polifenol yang terdapat pada bagian buah kiwi

(Sumber: Oryza, 2011)

Minyak biji kiwi banyak mengandung asam lemak omega-3 esensial, α -linolenat yang dikenal dengan sifat anti-alergi, dan ditemukan sejumlah tokotrienol, suatu antioksidan yang dapat menurunkan kolesterol. Polifenol banyak terdapat pada biji kiwi dibandingkan dengan kulit dan daging buah kiwi (gambar 2.3). Flavonol glikosida, yaitu *quercitrin* dan *kaempferol 3-o-rhamnoside* diidentifikasi sebagai komponen utama ekstrak biji buah kiwi. Banyak tanaman obat menunjukkan khasiatnya seiring dengan tingginya kandungan *quercetin*. *Quercetin* telah terbukti memiliki aktivitas sebagai anti peradangan (Rahmat, 2009). Sebuah studi lain mengungkapkan bahwa *quercitrin* berperan dalam penghambatan yang berhubungan dengan komplikasi diabetes mellitus. *Kaempferol 3-O-rhamnoside* memiliki struktur yang mirip dengan *quercitrin* dan mempunyai pengaruh fisiologis yang serupa.



Gambar 2.4 Quercitrin dan kaempferol pada biji buah kiwi

(Sumber: Oryza, 2011)

2.2 Antioksidan

2.2.1 Pengertian Antioksidan

Antioksidan adalah suatu senyawa yang pada konsentrasi rendah secara signifikan dapat menghambat atau mencegah oksidasi substrat dalam reaksi rantai (Halliwell dan Whitemann, 2004; Leong dan Shui, 2002). Antioksidan dapat melindungi sel-sel dari kerusakan yang disebabkan oleh molekul tidak stabil yang dikenal sebagai radikal bebas. Antioksidan dapat mendonorkan elektronnya kepada molekul radikal bebas, sehingga dapat menstabilkan radikal bebas dan menghentikan reaksi berantai. Contoh antioksidan antara lain β karoten, likopen, vitamin C, vitamin E (Sies, 1997).

Antioksidan dikelompokkan menjadi antioksidan enzim dan vitamin. Antioksidan enzim meliputi superoksida dismutase (SOD), katalase dan *glutathion peroxidases* (GSH.Prx). Antioksidan vitamin meliputi alfa tokoferol (vitamin E), beta karoten dan asam askorbat (vitamin C). Antioksidan vitamin lebih populer sebagai antioksidan dibandingkan enzim. Antioksidan yang termasuk ke dalam vitamin dan fitokimia disebut flavonoid. Flavonoid memiliki kemampuan untuk meredam molekul tidak stabil yang disebut radikal bebas. Para peneliti di *the U.S. Department of Agriculture's (USDA's) Arkansas Children's Nutrition Center in Little Rock* melakukan studi perbandingan antara buah kiwi, anggur merah dan stroberi, hasil menunjukkan antioksidan dalam buah kiwi adalah yang paling mudah dimetabolisme dan diserap ke dalam aliran darah.

2.2.2 Klasifikasi Antioksidan

Antioksidan dapat dikelompokkan menjadi dua bagian, yaitu antioksidan primer atau alami dan antioksidan sekunder atau sintetis

2.2.2.1. Antioksidan Primer atau alami

Antioksidan adalah zat yang dapat mencegah atau menghambat proses oksidasi sehingga membentuk senyawa yang lebih stabil. Antioksidan golongan Polifenol adalah kelompok yang paling banyak terdapat dalam buah-buahan, sayuran, tanaman polongan, biji-bijian, teh, rempah-rempah dan anggur (Horubala 1999; Borowska, 2003). Berikut adalah pengelompokan antioksidan primer (Hurrell, 2003):

1. Antioksidan mineral adalah kofaktor antioksidan enzim. Keberadaanya mempengaruhi metabolisme makromolekul kompleks seperti karbohidrat. Contoh: selenium, tembaga, besi, seng dan mangan.
2. Antioksidan vitamin, dibutuhkan untuk fungsi metabolisme tubuh. Contoh: vitamin C, vitamin E, vitamin B.
3. Fitokimia adalah senyawa fenolik, yang bukan vitamin maupun mineral. Senyawa yang termasuk ke dalam golongan fitokimia adalah senyawa flavonoid. Flavonoid adalah senyawa fenolik yang memberi warna pada buah, biji-bijian, daun, bunga dan kulit. Sebagai contoh katekin adalah senyawa antioksidan paling aktif pada teh hijau dan hitam, karotenoid adalah zat warna dalam buah-buahan dan sayuran, β karoten terdapat pada wortel dapat dikonversi menjadi vitamin A, likopen banyak terdapat dalam tomat dan zeaxantin banyak pada bayam.

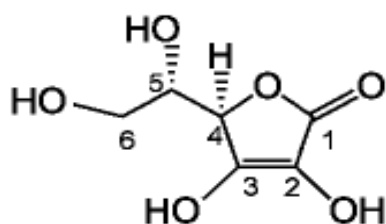
2.2.2.2 Antioksidan Sekunder atau Sintetik

Senyawa antioksidan sintetik memiliki fungsi menangkap radikal bebas dan menghentikan reaksi berantai (Hurrell, 2003), berikut adalah contoh antioksidan sintetik: *Butylated hydroxyl anisole* (BHA), *Butylated hydroxytoluene* (BHT), *Propyl gallate* (PG) dan *metal chelating agent* (EDTA), *Tertiary butyl hydroquinone* (TBHQ), *Nordihydro guaretic acid* (NDGA). Antioksidan utamapada saat ini digunakan dalam produk makanan adalah monohidroksi atau polihidroksi senyawa fenol dengan berbagai substituen pada cincin (Hamid, A. et al, 2010)

2.2.3 Jenis Antioksidan Alami

2.2.3.1 Vitamin C

Asam askorbat atau vitamin C (Gambar 2.5) adalah antioksidan monosakarida yang ditemukan pada tumbuhan. Asam askorbat adalah komponen yang dapat mengurangi dan menetralkan oksigen reaktif, seperti hidrogen peroksida (Antioksidan dan Pencegahan Kanker, 2007; Ortega, 2006).



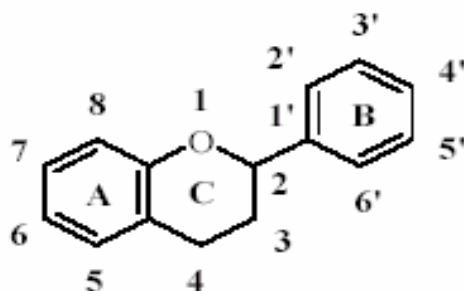
(1) L-Ascorbic acid

Gambar 2.5 Struktur kimia vitamin C

(Sumber: Kirk Othmer, *Encyclopedia of Chemical Technology*)

2.2.3.2 Flavonoid

Flavonoid merupakan kelompok antioksidan penting dan dibagi menjadi 13 kelas, dengan lebih dari 4000 senyawa ditemukan sampai tahun 1990 (Harborne, 1993). Flavonoid merupakan senyawaan fenol yang dimiliki oleh sebagian besar tumbuhan hijau dan biasanya terkonsentrasi pada biji, buah, kulit buah, kulit kayu, daun, dan bunga (Miller 1996). Flavonoid memiliki kontribusi yang penting dalam kesehatan manusia. Menurut Hertog (1992) disarankan agar setiap hari manusia mengkonsumsi beberapa gram flavonoid. Flavonoid diketahui berfungsi sebagai antimutagenik dan antikarsinogenik, selain itu memiliki sifat sebagai antioksidan, anti peradangan, anti alergi, dan dapat menghambat oksidasi LDL (Low Density Lipoprotein) (Rahmat, 2009). Gambar 2.6 adalah struktur flavonoid.



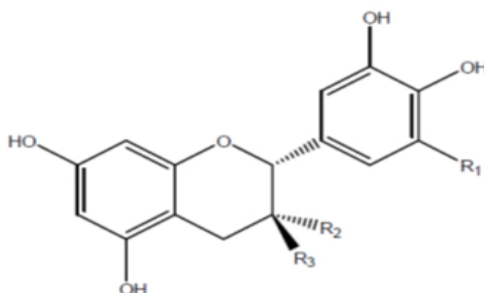
Gambar 2.6 Struktur flavonoid

(Markham, 1988)

Senyawa flavonoid yang paling banyak terdapat di alam adalah flavonol, flavon, flavon-3-ol, isoflavon, flavanon, antosianidin dan proantosianidin (Bravo, 1998). Kombinasi yang beragam dari gugus hidroksil, gula, oksigen, dan metil pada struktur ini

menjadi dasar pembagian golongan flavonoid menjadi flavonol, flavanon, flavon, flavon-3-ol (katekin), antosianidin, biflavonoid, dan isoflavon (Markham 1988; Miller 1996).

Menurut *USDA Database for the Flavonoid Content of Selected Foods*, buah kiwi mengandung senyawa bioaktif flavonoid yang dibagi ke dalam kelas: antosianidin, flavanon, flavon, flavonol dan flavon-3-ol. Penentuan kadar flavonoid pada buah kiwi dinyatakan dengan kadar katekin dimana katekin termasuk kedalam kelas flavon-3-ol. Senyawa katekin, memiliki gugus fungsi dari senyawa flavon-3-ol dengan posisi R1 dan R2 diganti dengan gugus H, sedangkan pada posisi R3 diganti dengan gugus OH.



Gambar 2.7 Struktur flavon-3-ol

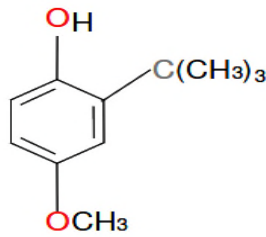
(*USDA Database for the Flavonoid Content of Selected Foods*, 2013)

2.2.3.3 Polifenol

Karakteristik antioksidan yang berasal dari bahan pangan dilihat dari kandungan polifenol. Sampai saat ini, minat penelitian terhadap senyawa fenolik meningkat karena kemampuan ‘*scavenging*’ terhadap radikal bebas. Polifenol merupakan salah satu kelompok yang paling banyak dalam tanaman pangan, dengan lebih dari 8000 struktur fenolik dikenal saat ini (Harborne, 1993). Polifenol adalah produk sekunder dari metabolisme tanaman.

Senyawa antioksidan alami polifenol adalah multifungsional, dapat berfungsi sebagai (Aulia, 2009):

- a) Pereduksi atau donor elektron
- b) Penangkap radikal bebas,
- c) Pengkelat logam, dan
- d) Peredam terbentuknya singlet oksigen.



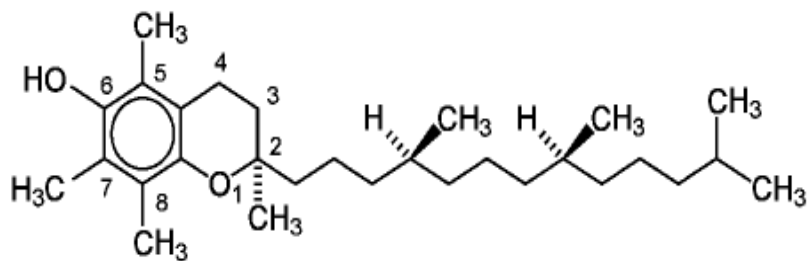
Gambar 2. 8 Struktur kimia polifenol

(Sumber: Hamid, dkk, 2010)

2.2.3.4 Vitamin E

Vitamin E merupakan vitamin yang larut dalam lemak dan memiliki sifat antioksidan, diantara vitamin E, yang paling banyak dipelajari adalah β tokoferol (Gambar 2.9) karena memiliki ketersediaan hayati yang tinggi (Herrera dan Barbas, 2001).

Tokoferol dapat melindungi membran sel dari oksidasi oleh radikal bebas pada reaksi rantai peroksidasi lipid. Tokoferol dapat menghambat radikal bebas dan mencegah tahap reaksi propagasi. Reaksi ini menghasilkan radikal tokoferosil yang dapat diubah kembali ke bentuk kurang aktif melalui pemberian elektron dari antioksidan lainnya, seperti askorbat dan retinol. Berikut ini pada gambar 2.9 adalah struktur kimia dari vitamin E :



Gambar 2. 9 Struktur kimia β tokoferol

(Sumber: Kirk Othmer, Encyclopedia of Chemical Technology)

2.2.4 Mekanisme Kerja Antioksidan

Radikal bebas adalah molekul yang mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbital terluarnya, radikal bebas sangat reaktif dan tidak stabil, sebagai usaha untuk mencapai kestabilannya radikal bebas akan bereaksi dengan atom atau molekul di sekitarnya untuk memperoleh pasangan elektron. Reaksi ini dalam tubuh dapat menimbulkan reaksi berantai yang mampu merusak struktur sel, bila tidak dihentikan akan menimbulkan berbagai penyakit seperti kanker, jantung, katarak, penuaan dini, serta penyakit degeneratif lainnya.

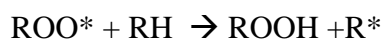
Untuk meredam aktivitas radikal bebas diperlukan antioksidan. Antioksidan adalah senyawa yang dapat mendonorkan elektronnya (pemberi atom hidrogen) kepada radikal bebas, sehingga menghentikan reaksi berantai, dan mengubah radikal bebas menjadi bentuk yang stabil.

Antioksidan pada makanan digunakan untuk mencegah atau menghambat proses oksidasi yang terjadi pada produk makanan misalnya lemak, terutama yang mengandung asam lemak tidak jenuh, dapat teroksidasi sehingga menjadi tengik, selain itu berguna untuk mencegah reaksi browning pada buah dan sayuran (Hamid et al., 2010).

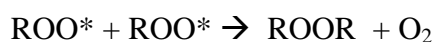
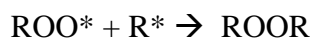
Reaksi berantai pada radikal bebas (tanpa ada antioksidan) terdiri dari tiga tahap, yaitu:

Tahap inisiasi : $RH \rightarrow R^* + H^*$

Tahap propagasi : $R^* + O_2 \rightarrow ROO^*$



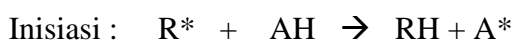
Tahap terminasi : $R^* + R^* \rightarrow R - R$



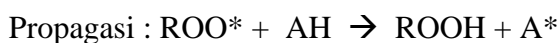
Pada tahap inisiasi terjadi pembentukan radikal bebas (R^*) yang sangat reaktif, karena (RH) melepaskan satu atom hidrogen, hal ini dapat disebabkan adanya cahaya, oksigen atau panas. Pada tahap propagasi, radikal (R^*) akan bereaksi dengan oksigen membentuk radikal peroksi (ROO^*). Radikal peroksi selanjutnya akan menyerang RH (misalnya pada asam lemak) menghasilkan hidroperoksida dan radikal baru. Hidrogen peroksida yang terbentuk bersifat tidak stabil dan akan terdegradasi menghasilkan senyawa-senyawa karbonil rantai pendek seperti aldehida dan keton (Nugroho, 2007).

Tanpa adanya antioksidan, reaksi oksidasi lemak akan berlanjut sampai tahap terminasi, sehingga antar radikal bebas dapat saling bereaksi membentuk senyawa yang kompleks.

Dengan adanya antioksidan, antioksidan memberikan atom hidrogen atau elektron pada radikal bebas (R^* , ROO^*), mengubahnya ke bentuk yang lebih stabil RH . Sementara turunan radikal antioksidan (A^*) memiliki keadaan lebih stabil dibanding radikal semula R^* . Reaksi penghambatan antioksidan terhadap radikal lipid mengikuti persamaan reaksi sebagai berikut (Yuswantina; Aulia, 2009) :



Radikal lipida

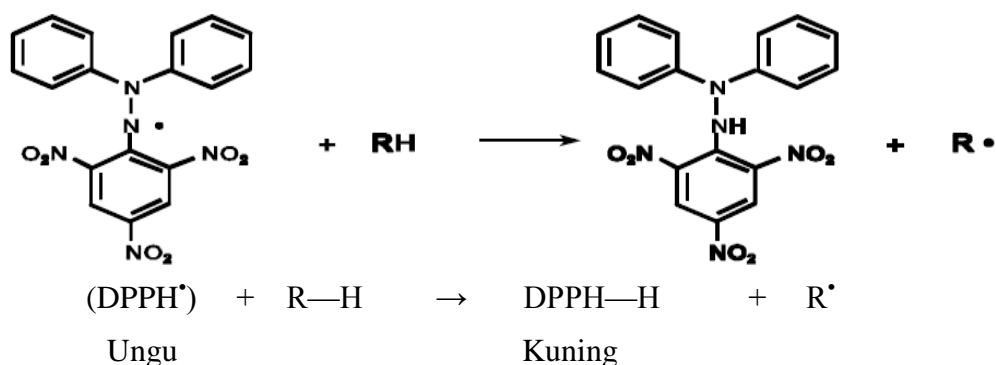


2.3 Analisis Senyawa Aktif Buah Kiwi

Analisis komponen aktif yang akan dilakukan pada buah kiwi adalah Uji Aktifitas antioksidan dengan DPPH, uji Flavonoid, uji fitokimia dan spektrofotometri massa.

2.3.1 Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

Metode yang umum untuk mengukur aktivitas antioksidan adalah dengan DPPH, DPPH adalah *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*. Pada metode ini antioksidan (AH) bereaksi dengan radikal bebas DPPH dengan cara mendonorkan atom hidrogen, menyebabkan terjadinya perubahan warna DPPH dari warna ungu menjadi kuning, intensitas warna diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 517 nm. Pada metode ini yang diukur adalah aktivitas penghambatan radikal bebas.



Gambar 2.10 Reaksi Penghambatan Radikal DPPH (Schwarz dkk., 2001)

Metode ini tidak spesifik untuk komponen antioksidan tertentu, tetapi untuk semua senyawa antioksidan dalam sampel. DPPH digunakan secara luas untuk menguji aktivitas antioksidan makanan. Warna berubah menjadi kuning saat radikal DPPH menjadi berpasangan dengan atom hidrogen dari antioksidan membentuk DPPH-H. Aktivitas antioksidan dapat dihitung dengan rumus berikut ini.

$$\% \text{ Aktivitas antioksidan} = \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

Berdasarkan rumus tersebut, makin kecil nilai absorbansi maka semakin tinggi nilai aktivitas penangkapan radikal. Aktivitas antioksidan dinyatakan secara kuantitatif dengan IC50. IC50 adalah konsentrasi larutan uji yang memberikan peredaman DPPH sebesar 50%.

2.3.2 Uji Flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa yang relatif polar, dapat diekstraksi dengan etanol. Pada analisis flavonoid total, senyawa yang terukur merupakan golongan flavon dan flavonol yang terdapat pada ekstrak. Analisis kandungan flavonoid total dari ekstrak buah kiwi dilakukan dengan pewarna AlCl_3 , kedua kelompok ini yang mampu membentuk kompleks stabil dengan AlCl_3 (Chang et al. 2002). Kadar flavonoid secara kuantitatif dapat diukur pada panjang gelombang 510 nm dengan menggunakan kurva standar *catechin* (James, 1978). Uji flavonoid juga dapat dilakukan dengan metode *Wilstater*, uji positif terhadap flavonoid ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah atau jingga, hal ini disebabkan oleh reduksi senyawa flavonoid oleh magnesium dan HCl pekat (Halimah, 2010; Depkes RI, 2000).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Bahan dan alat

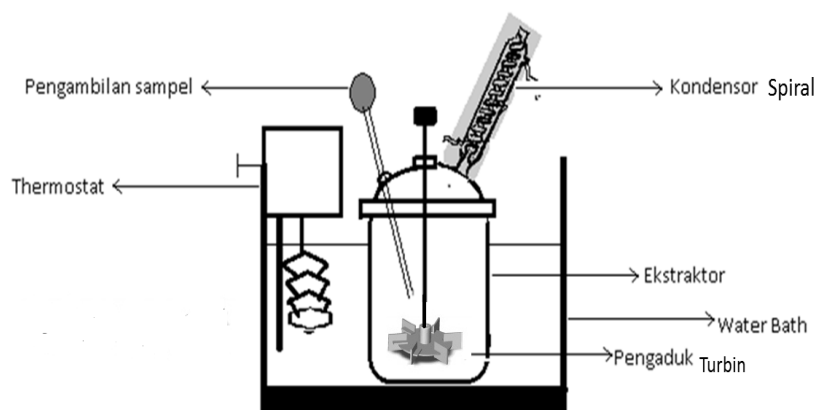
Bahan baku yang digunakan untuk penelitian adalah daging buah kiwi hijau hijau ZESPRI 4030 yang didapat di supermarket Yogya Bandung, diameter buah ± 7 cm. Bahan penunjang dalam analisis ini adalah akuades, 5% NaNO_2 , 10% $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 7% Na_2CO_3 , pelarut etanol 95 %.

Bahan yang digunakan untuk menguji aktivitas antioksidan adalah pereaksi DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*) dan Folin Ciocalteu.

Peralatan yang digunakan dalam percobaan utama adalah:

- *Waterbath*
- Termostat
- Sentrifuge
- Evaporator vakum
- Neraca analitik
- Spektrofotometer UV Visible
- Kondensorspiral

Peralatan pendukung penelitian ini meliputi pengaduk, labu takar, gelas ukur, spatula, pipet volum, botol sampel, kuvet. Proses ekstraksi padat cair dilakukan di dalam ekstraktor secara batch. Rangkaian ekstraktor dapat dilihat pada gambar 3.1.



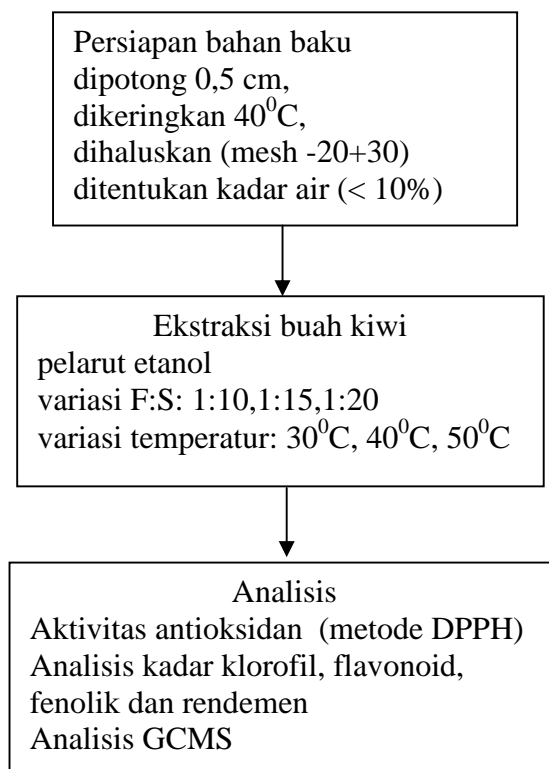
Gambar 3.1 Rangkaian Ekstraktor

3.2 Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan dalam mengekstraksi antioksidan pada buah kiwi ini terdiri dari:

1. Persiapan buah kiwi sebagai bahan baku
2. Ekstraksi padat cair dengan ekstraktor *batch*
3. Analisis antioksidan dan zat aktif pada buah kiwi

Diagram alir percobaan dapat dilihat pada Gambar 3.2 dibawah ini:



Gambar 3.2 Diagram Alir Percobaan

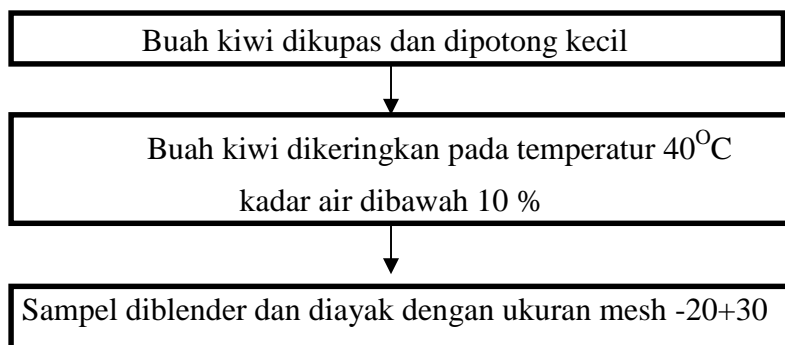
3.3 Prosedur Penelitian

Percobaan pendahuluan adalah penentuan panjang gelombang maksimum dari reaksi DPPH 0,1 mM dan ekstraksi buah kiwi. Percobaan utama adalah ekstraksi antioksidan pada buah kiwi dengan pelarut etanol, dengan variasi rasio massa umpan pelarut (F:S) dan temperatur ekstraksi. Selanjutnya dilakukan analisis kualitatif dan kuantitatif antioksidan ekstrak buah kiwi. Analisis berupa penentuan aktivitas antioksidan, kadar flavonoid, kadar fenolik total dan klorofil, serta uji fitokimia, GCMS(*Gas Chromatography Mass Spectrometric*).

3.3.1 Persiapan Bahan Baku

Bahan baku utama yang akan digunakan dalam penelitian adalah daging buah kiwi hijau ZESPRI 4030 yang didapat di supermarket Yogya Bandung. Pada tahap persiapan sampel, buah kiwi hijau ZESPRI 4030 dikupas terlebih dahulu dan dagingnya dipotong-potong tipis setebal ± 1 cm dan panjang 1-2 cm, bertujuan untuk memperluas luas permukaan buah kiwi pada saat dikeringkan di dalam oven. Sebelum dikeringkan, kadar air daging buah kiwi diukur lebih dahulu. Kadar air awal daging buah kiwi adalah 85 %.

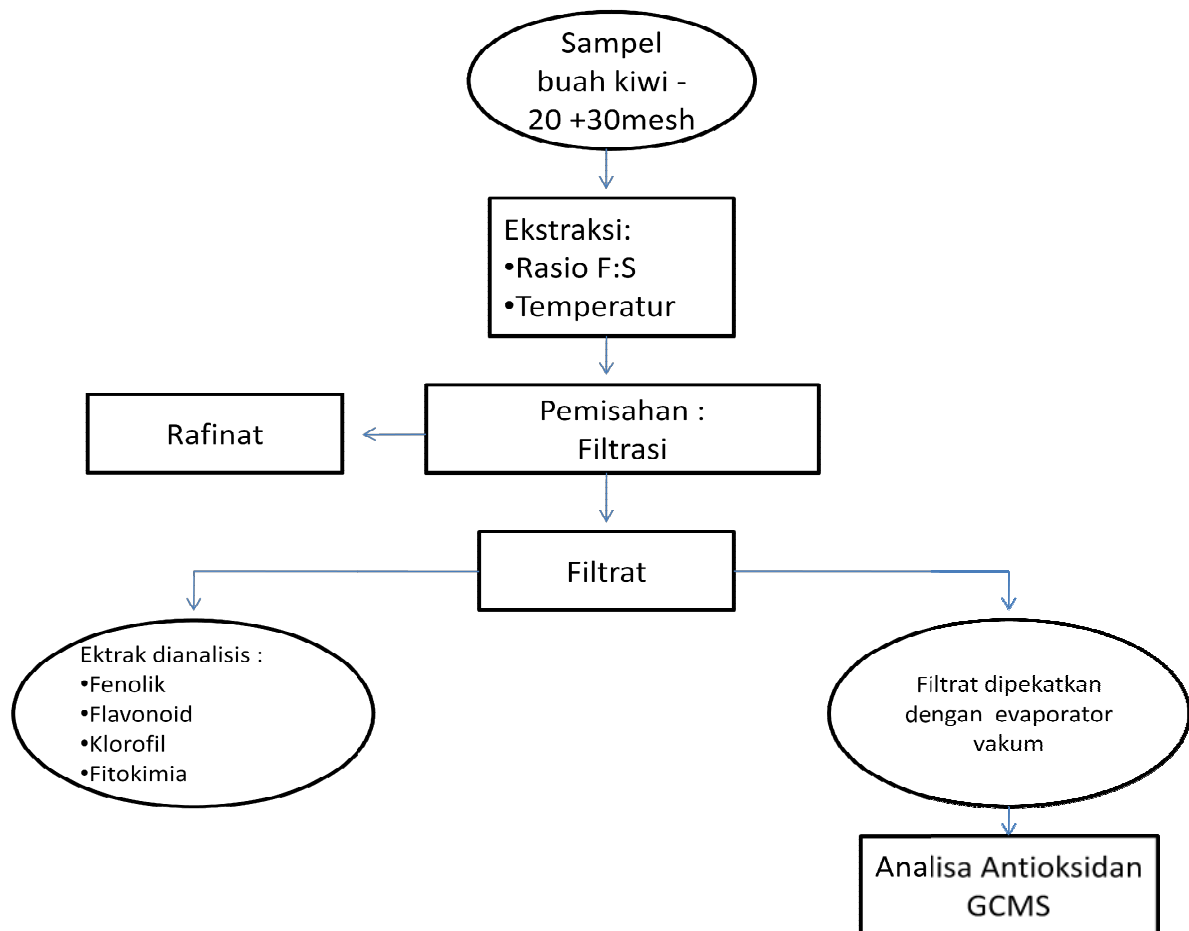
Buah kiwi yang telah dipotong, dipanaskan di dalam oven selama 24 jam dengan temperatur pengeringan kira-kira 30°C - 40°C , sampai kadar air dibawah 10 %. Pengeringan sampel bertujuan agar sampel dapat disimpan lebih lama. Buah kiwi yang sudah kering diblender sampai halus dan diayak dengan ukuran mesh -20+ 30. Selanjutnya serbuk buah kiwi disimpan di dalam freezer sebelum digunakan untuk ekstraksi. Berikut adalah tahapan persiapan serbuk buah kiwi:



Gambar 3.3 Diagram Alir Persiapan Bahan Baku

3.3.2 Ekstraksi buah kiwi

Ekstraksi buah kiwi dilakukan dengan pelarut etanol 95% selama 3 jam, perbandingan rasio umpan pelarut (F:S) adalah 1:10, 1:15 dan 1:20, serta variasi temperatur ekstraksi adalah 30°C , 40°C , 50°C . Ekstraksi dilakukan dengan ekstraktor *batch*. Berikut ini adalah bagan ekstraksi buah kiwi.



Gambar 3.4 Diagram Alir Ekstraksi Buah Kiwi

Serbuk buah kiwi ditimbang sebanyak 10 gram dimasukkan kedalam ekstraktor, temperatur air pada penangas diatur sesuai dengan kondisi ekstraksi yang diinginkan. Setelah temperatur ekstraksi tercapai, dimasukkan pelarut dengan perbandingan tertentu. Kecepatan pengadukan yang dipilih adalah 300 ± 5 rpm. Pengadukan bertujuan untuk membantu agar *solute* dapat diekstrak lebih merata pada pelarut. Ekstraksi dilakukan selama 3 jam sesuai waktu kesetimbangan, padatan yang tersisa di dalam ekstraktor dipisahkan, kemudian ekstrak disaring dengan kertas saring whatman no 41. Filtrat yang didapat sebagian dianalisis untuk kadar klorofil, fenolik total, flavonoid dan fitokimia. Sebagian besar filtrat dipekatkan dengan evaporator vakum, kemudian aktivitas antioksidan dianalisis.

3.4 Analisis

Untuk mengetahui kadar antioksidan pada buah kiwi, dilakukan serangkaian analisis.

Analisis kuantitatif berupa penentuan aktivitas antioksidan, kadar flavonoid kadar fenolik total, klorofil dan vitamin C. Data yang digunakan untuk analisis adalah nilai absorbansi yang didapat dari semua ekstrak buah kiwi dengan variasi F:S dan temperatur ekstraksi. Analisis yang dilakukan adalah sebagai berikut:

a) Uji aktivitas antioksidan (Blois, 2005)

Sebagian besar filtrat dari buah kiwi dipekatkan dengan evaporator vakum untuk dipisahkan dari pelarutnya. Ekstrak buah kiwi hasil evaporasi dilarutkan dengan metanol menjadi konsentration 10000 ppm, kemudian diencerkan menjadi lima variasi konsentration yaitu 5000, 2500, 1250, 500 dan 250 ppm, tujuannya untuk menentukan aktivitas antioksidan dengan membuat kurva IC 50. Masing-masing ekstrak direaksikan dengan DPPH 0,1mM dengan perbandingan volum 1: 1, diinkubasi selama 30 menit, kemudian diukur absorbansi sampel dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 515 nm. Penentuan IC50 dibuat dari persamaan regresi antara persentase aktivitas radikal bebas DPPH pada ekstrak terhadap 5 konsentration tadi. Aktivitas antioksidan dapat dihitung dengan rumus berikut ini:

$$\% \text{ Aktivitas antioksidan} = \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

b) Penentuan kadar flavonoid

Metode analisis flavonoid total yang diukur merupakan golongan flavon dan flavonol yang terdapat pada ekstrak, kedua kelompok senyawa ini dapat membentuk kompleks stabil dengan AlCl_3 (Chang dkk., 2002; Kao, 2006)). Senyawa ini merupakan komponen flavonoid yang mayoritas terdapat pada sayuran dan buah (Lee, 2000). Analisis kandungan flavonoid total dari ekstrak kiwi dilakukan dengan metode pewarnaan AlCl_3 , diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 510 nm. Kadar flavonoid secara kuantitatif diukur dengan menggunakan kurva standar katekin (James, 1978), dengan $y = 0,0053x + 0,0075$.

c) Uji kadar fenolik total

Kandungan fenolik total dianalisa dengan pereaksi Folin-Ciocalteu (Kao, 2006). Prinsip metode Folin Ciocalteu adalah oksidasi gugus fenolik hidroksil. Sampel buah kiwi direaksikan dengan Folin Ciocalteu lalu diukur absorbansinya pada 725

nm. Data absorbansi dialurkan terhadap kurva standar asam galat untuk menentukan kadar fenolik total.

d) Penentuan kadar total klorofil (Leunda, dkk 1999)

Kandungan klorofil total diukur dengan menggunakan metode spektrofotometri. Ekstrak kiwi disaring dengan kertas saring. Filtrat yang didapat ditempatkan dalam kuvet untuk selanjutnya diukur kandungan klorofil total dengan alat spektrofotometer pada panjang gelombang 649 nm, dan 665 nm. Kadar total klorofil ditentukan pula dengan mengukur absorbansi dari masing - masing sampel. Kadar total klorofil diestimasi dengan persamaan:

$$\text{Total klorofil (ppm)} = 6,45 \times A_{665} + 17,72 \times A_{649}$$

e) Uji kadar vitamin C

Metode pengukuran kadar vitamin C dilakukan dengan menggunakan titrasi redoks iodometri. Caranya yaitu dengan menambahkan larutan kanji (indikator) pada larutan sampel, kemudian dititrasi dengan larutan iodine (I_2). Proses titrasi berakhir ketika warna larutan berubah menjadi biru.

f) Analisis dengan GCMS (*Gas Chromatography Mass Spectrometric*)

3.5 Rancangan Percobaan

Rancangan percobaan yang digunakan adalah rancang percobaan faktorial dua faktor. Rancangan ini dilakukan untuk mempelajari pengaruh dua faktor (variabel) dan interaksinya. Perhitungan ANOVA menggunakan *software DesignExperts*.

BAB IV JADWAL PELAKSANAAN

Kegiatan penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kimia Jurusan Teknik Kimia Universitas Katolik Parahyangan. Waktu pelaksanaan penelitian pada tahun 2014 dapat dilihat pada tabel 4.1.

Tabel 4.1 Jadwal Pelaksanaan Penelitian

Kegiatan	Januari	Februari	Maret	April	Mei	Juni	Juli	Agus tus	Sept ember	Okto ber
Studi pustaka										
Persiapan alat dan bahan										
Persiapan sampel										
Percobaan										
Pembahasan hasil percobaan										
Pembuatan laporan										

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

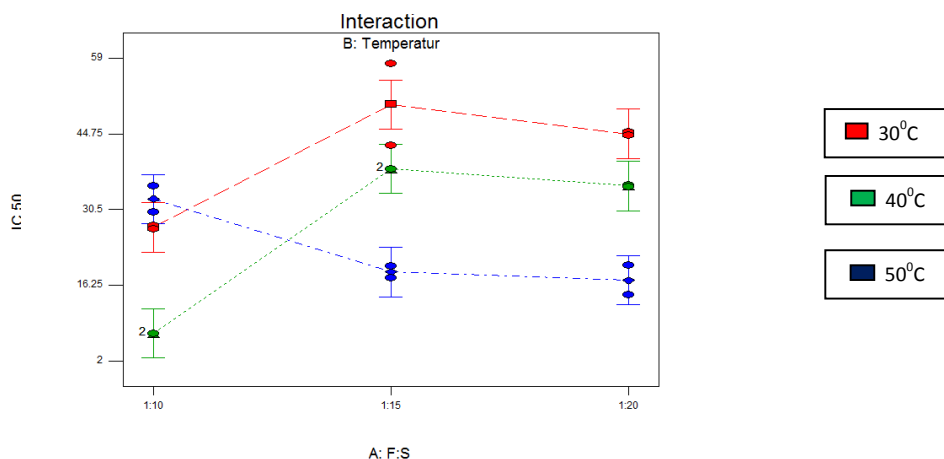
5.1 Aktivitas Antioksidan

Sampel dari ekstrak buah kiwi pada berbagai variasi F:S dan temperatur sebagian dianalisis untuk penentuan kadar flavonoid, kadar fenolik, kadar klorofil dan kadar vitamin C, sedangkan sebagian besar filtrat dipekatkan dengan evaporator vakum untuk analisis aktivitas antioksidan dan rendemen. Aktivitas antioksidan dinyatakan secara kuantitatif dengan IC₅₀. IC₅₀ adalah konsentrasi larutan uji yang memberikan peredaman terhadap DPPH sebesar 50%.

Berikut ini adalah tabel data IC₅₀ dan rendemen pada berbagai variasi kondisi ekstraksi dengan dua ulangan, selanjutnya dibuat kurva pengaruh variasi F:S dan temperatur ekstraksi terhadap IC₅₀ dan rendemen dengan pelarut etanol.

Tabel 5.1 Perolehan nilai IC₅₀ (mg/L) dan rendemen (%)

Kondisi		IC ₅₀		Rendemen	
T	F:S	1	2	1	2
30 ⁰ C	1:10	27,50	26,85	55,7	57,5
30 ⁰ C	1:15	42,57	58,03	65,6	68,0
30 ⁰ C	1:20	45,10	44,49	59,6	60,1
40 ⁰ C	1:10	7,21	7,17	49,4	51,4
40 ⁰ C	1:15	38,14	38,14	54,8	53,4
40 ⁰ C	1:20	35,15	34,76	64,8	68,6
50 ⁰ C	1:10	30,05	35,01	45,6	49,8
50 ⁰ C	1:15	19,80	17,70	68,5	69,9
50 ⁰ C	1:20	20,05	14,39	85,7	87,9



Gambar 5.1 Pengaruh F:S dan Temperatur Terhadap Respon IC50

Pada gambar 5.1 dapat dilihat bahwa pada F:S =1:10 dan temperatur 40⁰C nilai IC50 terkecil, yaitu sebesar 7,2 mg/L, sedangkan pada F:S =1:15 dan F:S =1:20 nilai IC50 terkecil pada temperatur 50⁰C. Semakin kecil nilai IC50, aktivitas antioksidan makin tinggi. Pada perbandingan F:S yang kecil, aktivitas antioksidan tertinggi pada temperatur 40⁰C, sedangkan pada temperatur 50⁰C aktivitas antioksidan tertinggi pada F:S yang semakin besar. Pada temperatur yang relatif tinggi dengan jumlah pelarut yang relatif kecil sebagian antioksidan lebih mudah mengalami degradasi. Dengan jumlah pelarut yang relatif besar antioksidan lebih mudah berdifusi kedalam pelarut.

Tabel 5.2 Hasil Perhitungan ANOVA Pengaruh F:S dan Temperatur Terhadap Respon IC50 (mg/L)

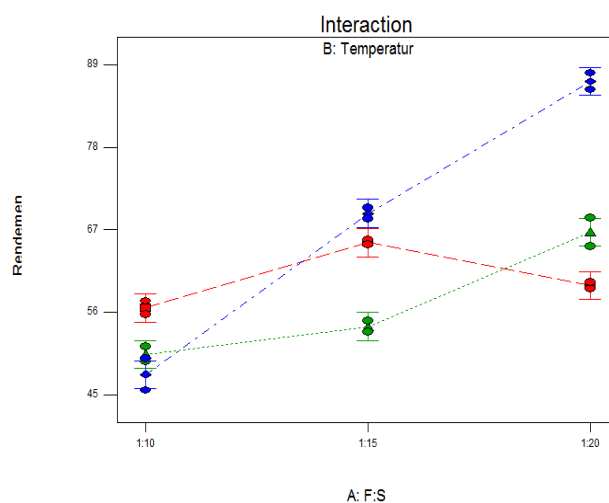
Source	Sum of Square	Df	Mean Square	F value	p-value Prob> F	
Model	3600,46	8	450,06	10,62	0,0009	Signifikan
A - F:S	557,67	2	278,83	6,58	0,0173	Signifikan
B - Temperatur	1279,31	2	639,66	15,10	0,0013	Signifikan
AB	1763,47	4	440,87	10,40	0,0020	Signifikan
Pure Error	381,34	9	42,37			
Cor Total	3981,80	17				

Dari tabel 5.2 dapat disimpulkan bahwa F:S dan temperatur ekstraksi serta interaksinya berpengaruh signifikan terhadap IC50 dengan nilai p value <0,05. Pada gambar 1 terlihat bahwa pada F:S adalah 1:15 dan 1:20 nilai IC50 pada temperatur 50⁰C lebih kecil daripada temperatur 30⁰C dan 40⁰C, hal ini menunjukkan bahwa kenaikan temperatur ekstraksi dari 30⁰C sampai 50⁰C dapat meningkatkan aktivitas antioksidan.

Hasil penelitian yang dilakukan oleh Kao Ming Wei diperoleh IC₅₀ sebesar 129,6 mg/100 g buah kiwi dengan standar vitamin C pada campuran pelarut aseton dan heksana (2:3) dengan F: S= 1:5 dan temperatur ekstraksi 4⁰C. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Yanhouy Lee didapat IC₅₀ sebesar 14,5±4,7 ppm dengan menggunakan pelarut etanol 70%, F: S= 1:40 dan temperatur ekstraksi 40⁰C. Dapat disimpulkan bahwa perolehan IC₅₀ dalam percobaan lebih tinggi dari pustaka. Molyneux (2004) menyatakan bahwa suatu zat mempunyai sifat antioksidan bila nilai IC₅₀ kurang dari 200 ppm. Bila nilai IC₅₀ yang diperoleh berkisar antara 200-1000 ppm, maka zat tersebut kurang aktif namun masih berpotensi sebagai zat antioksidan. Dari semua hasil data analisis IC₅₀ dengan pelarut etanol pada berbagai kondisi, memberikan nilai IC₅₀ dibawah 200 ppm, ini berarti pelarut etanol sangat baik untuk mengekstrak antioksidan dalam buah kiwi, pelarut etanol yang relatif polar dapat melarutkan senyawa antioksidan pada buah kiwi.

5.2 Pengaruh Temperatur dan F:S Terhadap Rendemen

Rendemen adalah perbandingan massa ekstrak yang didapat terhadap massa sampel buah kiwi. Perolehan rendemen yang berbeda-beda umumnya dipengaruhi oleh rasio massa umpan pelarut dan temperatur ekstraksi. Dari hasil diperoleh rendemen tertinggi adalah 86,80 % pada F:S 1:20 dan temperatur 50⁰C. Gambar 5.2 menunjukkan profil pengaruh faktor temperatur dan F:S terhadap perolehan berat ekstrak. Dapat dilihat bahwa perbandingan umpan dan pelarut serta temperatur memberikan respon positif terhadap perubahan berat ekstrak, semakin tinggi temperature sampai 50⁰C dan F:S sampai 1:20 maka perolehan berat ekstrak meningkat.



Gambar 5.2 Pengaruh F:S dan Temperatur Terhadap Rendemen

Dari perhitungan dengan ANOVA dapat disimpulkan bahwa temperatur dan F:S serta interaksinya memberi pengaruh yang signifikan terhadap rendemen dengan nilai p value < 0,05. Secara umum kenaikan temperatur sampai 50°C mengakibatkan rendemen meningkat. Peningkatan rendemen dapat disebabkan oleh besarnya laju difusi *solute* (antioksidan) dari matriks padat ke permukaan, laju perpindahan massa *solute* meningkatkan kelarutan *solute* di dalam pelarut. Dari hasil penelitian menunjukkan semakin besar perbandingan F:S sampai 1:20, nilai rendemen makin tinggi. Karena semakin besar rasio F:S untuk massa umpan yang sama, akan semakin banyak *solute* yang dapat diekstraksi. Rasio F:S mempengaruhi gradien konsentrasi *solute* antara umpan dengan pelarut serta mobilitas molekul *solute* di dalam pelarut (Treybal, 1980).

Tabel 5.3 Hasil Perhitungan ANOVA Terhadap Respon Rendemen

Source	Sum of Square	Df	Mean Square	F value	p-value Prob> F	
Model	2272,22	8	284,03	103,69	0,0001	Signifikan
A - F:S	1145,38	2	572,69	209,08	0,0001	Signifikan
B - Temperatur	368,00	2	184,00	67,17	0,0001	Signifikan
AB	758,84	4	189,71	69,26	0,0001	Signifikan
Pure Error	24,65	9	2,74			
Cor Total	2296,88	17				

5.3 Uji Fitokimia

Uji fitokimia dilakukan untuk mengetahui komponen bioaktif yang terkandung dalam ekstrak buah kiwi, ekstraksi dilakukan dengan etanol pada temperatur 40°C dan F:S 1:10. Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa pada ekstrak kiwi mengandung senyawa golongan polifenol dan flavonoid, dan tidak terdapat antosianin, uji antosianin positif terjadi bila sampel buah mengandung senyawa berpigmen merah. Pelarut etanol dapat mengekstrak golongan senyawa polar, seperti polifenol dan flavonoid.

Tabel 5.4 Hasil Uji Fitokimia

komponen	Hasil uji Fitokimia
Antosianin	-
Polifenol	+
Flavonoid	++

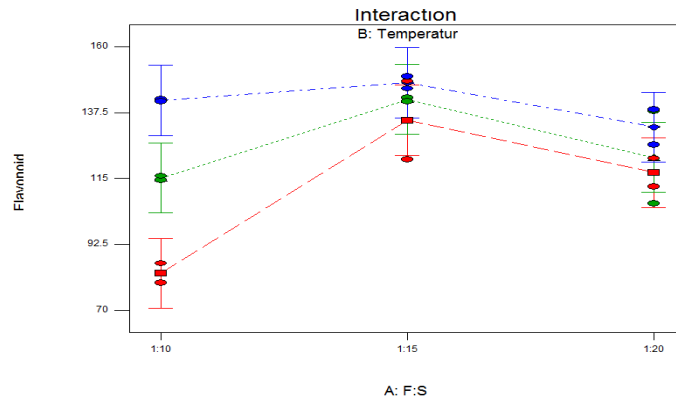
5.4 Kadar Flavonoid

Pada penentuan kadar flavonoid, masing-masing ekstrak kiwi pada berbagai variasi percobaan direaksikan dengan NaNO_2 dan AlCl_3 sehingga larutan berwarna kuning. Hal ini disebabkan AlCl_3 membentuk kompleks asam yang stabil dengan gugus keton atau gugus hidroksil dari flavon dan flavonol, sehingga terbentuk larutan kuning (Wahyuningrum, 2006), ditambahkan larutan NaOH agar tercipta suasana basa yang ditandai dengan berubahnya warna larutan menjadi orange hingga merah (Sri, 2010). Kadar flavonoid pada ekstrak buah kiwi dinyatakan dengan ppm katekin. Berikut adalah data hasil percobaan untuk perolehan flavonoid.

Tabel 5.5 Perolehan Kadar Flavonoid (mg/100 g)

T	F:S	Kadar Flavonoid	
		1	2
30 ⁰ C	1:10	79,39	86,03
30 ⁰ C	1:15	148,24	121,55
30 ⁰ C	1:20	121,91	112,18
40 ⁰ C	1:10	114,53	115,87
40 ⁰ C	1:15	142,64	141,41
40 ⁰ C	1:20	137,96	106,48
50 ⁰ C	1:10	142,03	141,41
50 ⁰ C	1:15	145,73	149,70
50 ⁰ C	1:20	138,65	126,47

Gambar 5.3 merupakan grafik interaksi kadar flavonoid dengan variasi F:S dan temperatur ekstraksi. Dari hasil penelitian diperoleh kadar flavonoid ekstrak buah kiwi tertinggi adalah 147,7 mg/100 g ekstrak pada F:S = 1:15 dan temperatur 50⁰C. Hal ini menunjukkan bahwa pada semua perbandingan F:S, semakin tinggi temperatur dari 30⁰C sampai 50⁰C dapat mengekstraksi flavonoid lebih banyak. Pada umumnya kelarutan zat akan bertambah dengan meningkatnya temperatur.



Gambar 5.3 Pengaruh F:S dan Temperatur Terhadap Kadar Flavonoid

Tabel 5.6 Hasil Perhitungan ANOVA Pengaruh F:S dan Temperatur Terhadap Kadar Flavonoid (mg/100g)

Source	Sum of Square	df	Mean Square	F value	p-value Prb> F	
Model	7320,99	8	915,12	6,40	0,0058	Signifikan
A - F:S	1915,54	2	957,77	6,70	0,0165	Signifikan
B -Temperatur	3272,75	2	1636,38	11,45	0,0034	Signifikan
AB	2132,70	4	533,18	3,73	0,0468	Signifikan
Pure Error	1286,64	9	142,96			
Cor Total	8607,64	17				

Dari tabel 5.6 dapat disimpulkan bahwa temperatur dan F:S serta interaksinya berpengaruh terhadap kadar flavonoid dengan nilai p value < 0,05. Berdasarkan penelitian Kao Ming Wei, kadar flavonoid untuk buah kiwi hijau adalah 26,1-27,0 mg katekin per 100 gram sampel, pada ekstraksi dengan pelarut campuran aseton dan heksana (2:3), F: S = 1,5 dan temperatur ekstraksi 4⁰C. Berdasarkan penelitian Yanhoy Lee, didapat kadar flavonoid sebesar 105 mg *quecetrin* per 100 gram sampel dengan pelarut etanol 70%, F: S=1:40 dan temperatur ekstraksi 40 ⁰C. Dapat dikatakan bahwa perolehan flavonoid dalam penelitian relatif lebih tinggi dari pustaka. Flavonoid merupakan senyawa polar umumnya flavonoid larut dalam pelarut polar seperti metanol, etanol, butanol, dan air. Adanya gula yang terikat pada flavonoid cenderung menyebabkan flavonoid lebih mudah larut dalam air (Markham, 1988). Berdasarkan hasil pengujian golongan flavonoid, menunjukkan ekstrak bahan alam mengandung senyawa flavonol dan flavon (Wijono 2003). Flavonol lebih polar daripada flavon karena flavonol memiliki kelebihan gugus hidroksi pada posisi 3. Oleh karena itu flavonol dapat larut dalam pelarut yang kepolarannya lebih tinggi

daripada flavon (Wijono, 2003). Alkohol merupakan pelarut yang baik untuk ekstraksi senyawa bioaktif dalam tanaman.

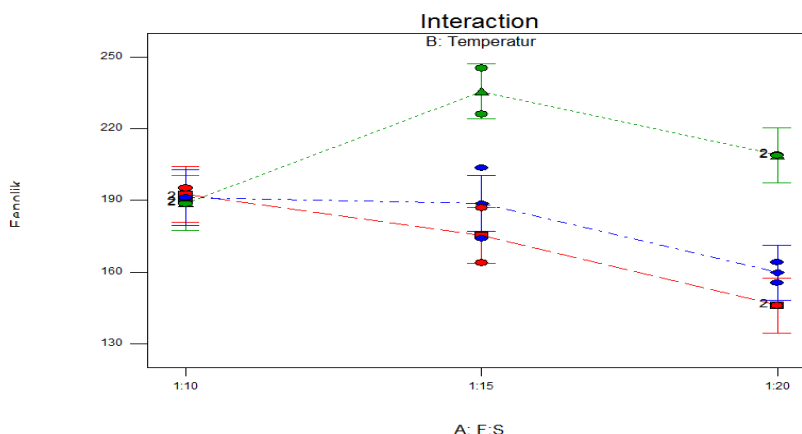
5.5 Kadar Fenolik Total

Pengujian aktivitas fenolik total merupakan dasar dilakukan uji aktivitas antioksidan, diketahui bahwa senyawa fenolik berperan dalam mencegah terjadinya peristiwa oksidasi. Total fenol merupakan perkiraan jumlah senyawa fenolik yang terdapat dalam suatu bahan. Pengukuran total fenol dalam penelitian ini menggunakan pereaksi folin. Senyawa folin dapat bereaksi dengan gugus kromofor pada fenolik membentuk warna yang dapat diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 725 nm. Kadar fenolik total diukur dengan menggunakan Folin-Ciocalteu yang didasarkan pada reaksi oksidasi-reduksi. Pereaksi Folin terdiri dari asam fosfomolibdat dan asam fosfotungstat akan tereduksi oleh senyawa polifenol menjadi molibdenum-tungsten. Pengukuran total fenol dilakukan dengan membandingkan fenol yang ada dalam bahan dengan grafik standar fenol yang dibuat dari asam galat (Kusumaningati, 2009). Penggunaan asam galat sebagai standar karena senyawa ini sangat efektif untuk membentuk senyawa kompleks dengan pereaksi Folin-Ciocalteu, (Julkunen-Tiito dan Kiay *et al.*, 2011). Dalam analisis kadar fenolik total, pereaksi Folin Ciocalteu diencerkan dengan akuades pada perbandingan 1:5. Berikut adalah tabel data kadar fenolik total.

Tabel 5.7 Perolehan Kadar Fenolik Total (mg/100g)

T	F:S	Kadar Fenolik	
		1	2
30 ⁰ C	01:10	190,00	195,00
30 ⁰ C	01:15	163,89	186,74
30 ⁰ C	01:20	145,86	146,00
40 ⁰ C	01:10	189,00	188,62
40 ⁰ C	01:15	224,02	225,91
40 ⁰ C	01:20	209,00	208,67
50 ⁰ C	01:10	191,00	191,17
50 ⁰ C	01:15	203,48	173,88
50 ⁰ C	01:20	164,00	155,44

Fenol dapat bereaksi dengan Folin membentuk larutan berwarna yang dapat diukur absorbansinya, digunakan pula Na_2CO_3 5% untuk mengatur kondisi basa sehingga terjadi reaksi antara senyawa fenol dengan Folin Ciocalteau. Prinsip dari metode ini adalah terbentuknya senyawa kompleks berwarna biru, dihasilkan dari reduksi kompleks fosfotungstat-fosfomolibdat yang terdapat dalam pereaksi Folin Ciocalteau oleh senyawa fenol dalam suasana basa. Selanjutnya sampel diukur absorbansi pada panjang gelombang 725 nm.



Gambar 5.4 Pengaruh F:S dan Temperatur Terhadap Kadar Fenolik

Pada gambar 5.3 terlihat bahwa pada F:S 1:10, kadar fenolik yang diperoleh hampir sama pada semua variasi temperatur. Pada F:S 1:15, didapat bahwa fenolik lebih banyak tereskrak pada temperatur 40°C , pada temperatur 30°C senyawa fenol belum terkstrak sempurna, sedangkan pada temperatur 50°C sebagian senyawa fenol mungkin terurai. Pada F:S 1:20, perolehan fenolik relatif lebih kecil, dari F:S 1:15. Dari tabel 7 dapat disimpulkan bahwa pengaruh temperatur, F:S dan interaksinya mempengaruhi kadar flavonoid dengan nilai p value $< 0,05$.

Tabel 5.8 Hasil Perhitungan ANOVA Pengaruh F:S dan Temperatur Terhadap Kadar Fenolik (mg/100g)

Source	Sum of Square	df	Mean Square	F value	p-value Prb> F	
Model	10923,81	8	1365,48	13,11	0,0004	Signifikan
A- F:S	2522,13	2	1261,06	12,10	0,0028	Signifikan
B-Temperatur	5277,61	2	2638,81	25,33	0,0002	Signifikan
AB	3124,07	4	781,02	7,50	0,0061	Signifikan
Pure Error	937,73	9	104,19			
Cor Total	11861,54	17				

Kadar fenolik tertinggi didapat pada ekstraksi dengan pelarut etanol pada F:S = 1:15 dan temperatur ekstraksi 40°C yaitu 224,9 mg per 100 gram ekstrak. Tingginya kandungan fenol dipengaruhi oleh pelarut yang digunakan untuk ekstraksi. Pelarut etanol merupakan pelarut yang umum digunakan dan efektif untuk ekstraksi komponen-komponen fenolik dari bahan alam (Shahidi,1992). Fenol merupakan senyawa yang bersifat polar sehingga kelarutannya paling tinggi dalam pelarut etanol. Pelarut yang bersifat polar mampu melarutkan fenol lebih baik sehingga kadarnya dalam ekstrak menjadi tinggi. Semakin tinggi kandungan fenol (jumlah gugus hidroksil fenolik) suatu sampel, maka semakin tinggi pula absorbansinya. Perbedaan tingkat kepolaran pelarut menentukan struktur dan jenis senyawa fenolik yang terekstrak. Senyawa fenolik yang mempunyai gugus hidroksil lebih banyak akan menghasilkan kandungan fenolik total yang tinggi. Golongan alkohol primer, memiliki gugus polar OH dan rantai hidrokarbon yang non polar (Arani dan Valery, 2009). Berdasarkan penelitian Kao Ming Wei, kadar fenolik total untuk buah kiwi hijau adalah 88,5-155,5 mg asam galat per 100 gram sampel, pada ekstraksi menggunakan pelarut campuran aseton dan heksana (2:3), F: S= 1:5 dan temperatur ekstraksi 4 °C. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Hui-Na Chou, dkk didapat kadar fenolik total sebesar 40 mg/100g buah kiwi dengan pelarut air, F: S= 1:5 dan temperatur ekstraksi 4 °C. Dapat disimpulkan bahwa kadar fenolik dari hasil penelitian lebih besar dari Kao Ming Wei.

5.6 Analisis Vitamin C

Analisis vitamin C dilakukan dengan menggunakan sampel buah kiwi yang diekstraksi pada temperatur 40°C dengan pelarut etanol pada perbandingan F:S 1:10. Dari hasil percobaan diperoleh kadar vitamin C adalah 7,65 mg/g ekstrak buah kiwi. Kadar vitamin C pada buah kiwi ditentukan dengan titrasi iodimetri, ketelitian pengukuran sangat bergantung pada perubahan warna titik akhir titrasi.

5.7 Kadar Klorofil

Penentuan kadar klorofil dilakukan dengan menggunakan sampel buah kiwi yang diekstraksi pada temperatur 40°C dan F:S 1:10. Pemilihan kondisi ini berdasarkan hasil IC50 terbaik. Kadar total klorofil yang diperoleh adalah 10,24 ppm. Bianca (1993) menyatakan bahwa ekstraksi klorofil dengan alkohol pada jaringan tanaman memberikan hasil yang lebih baik dibandingkan pelarut aseton dan air. Selain itu alkohol merupakan

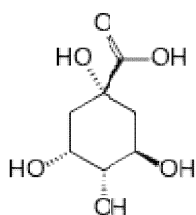
salah satu pelarut yang dianjurkan untuk mengekstraksi komponen aktif untuk membuat produk pangan, karena relatif lebih aman dari pelarut lain. Dari hasil percobaan Kao Ming Wei diperoleh kadar klorofil untuk buah kiwi hijau adalah 1,7 - 15 ppm dengan menggunakan pelarut campuran aseton dan heksana (2:3), pada F:S = 1:5 dan temperatur ekstraksi 4°C, sehingga perolehan klorofil dari hasil percobaan ini berada pada rentang tersebut di atas.

5.8 Analisis dengan GCMS

Untuk mengetahui komponen yang terkandung dalam ekstrak buah kiwi dilakukan analisis dengan gas kromatografi mass spektrofotometri, analisis ini dilakukan di laboratorium Teknik Kimia ITB. Hasil analisis ditunjukkan pada gambar 5.5.

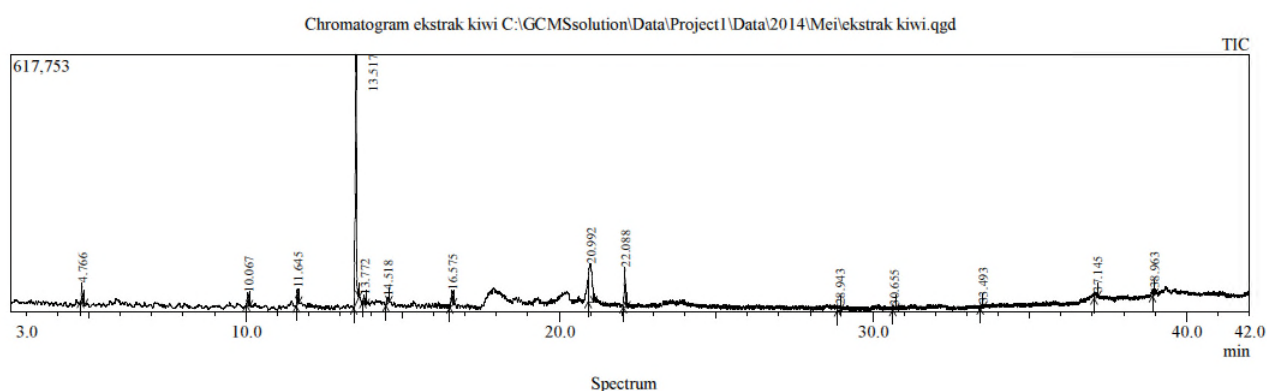
Dari spektrum gas kromatografi mass spektrometri (GCMS) menunjukkan bahwa dalam ekstrak buah kiwi terdapat 14 komponen, komponen dengan luas puncak relatif besar adalah *Quinic Acid (1,3,4,5-tetrahydroxycyclohexanecarboxylic acid)* dan *2-Furancarboxaldehyde,5-(hydroxymethyl) –CAS HMF*, masing-masing mempunyai waktu retensi 20,992 dan 13,517 dan luas puncak 705.196 dan 1.743.453.

Quinic acid mempunyai rumus molekul $C_7H_{12}O_6$, merupakan golongan polifenol, buah kiwi mengandung *Quinic acid* dengan kadar 1-2 %(w/w), merupakan komponen yang memberi rasa khusus pada buah kiwi, merupakan antioksidan dan nutrisi bagi tubuh manusia. Struktur molekul *Quinic acid* adalah sebagai berikut:



Sample Information

Analyzed by : Admin
 Analyzed : 8/7/2014 10:21:08 AM
 Sample Type : Unknown
 Level # : 1
 Sample Name : ekstrak kiwi
 Sample ID : KI
 IS Amount : [1]=1
 Sample Amount : 1
 Dilution Factor : 1
 Vial # : 1
 Injection Volume : 1.00
 Data File : C:\GCMSsolution\Data\Project1\Data\2014\Mei\ekstrak kiwi.qgd
 Org Data File : C:\GCMSsolution\Data\Project1\Data\2014\Mei\ekstrak kiwi.qgd
 Method File : C:\GCMSsolution\Data\Project1\019_kiw-met.qgm
 Org Method File : C:\GCMSsolution\Data\Project1\019_kiw-met.qgm
 Report File :
 Tuning File : C:\GCMSsolution\System\Tune1\13092013.qgt
 Modified by : Admin
 Modified : 8/8/2014 10:16:21 AM



Gambar 5.5 Kromatogram Ekstrak Kiwi dengan GCMS

Tabel 5.9 Hasil Analisis Ekstrak Kiwi dengan GCMS

Peak Report TIC									
Peak#	R.Time	Area	Area%	Height	Height%	A/H	Mark	Name	
1	4.766	105402	3.12	46728	4.54	2.26		2-Furancarboxaldehyde (CAS) Furfural	
2	10.067	73621	2.18	30549	2.97	2.41		Thymine	
3	11.645	83836	2.48	37527	3.65	2.23		2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-one	
4	13.517	1743453	51.62	597305	58.09	2.92		2-Furancarboxaldehyde, 5-(hydroxymethyl)- (CAS) HMF	
5	13.772	44636	1.32	19090	1.86	2.34		1,2,3-Propanetriol, 1-acetate	
6	14.518	62903	1.86	16431	1.60	3.83		4H-Pyran-4-one, 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl- (CAS) 3,5-DIHYDROXY-2-METHYL-5,6-DIHYDROPYRAN	
7	16.575	113832	3.37	35607	3.46	3.20		1,3-Dihydroxy-4-hexene	
8	20.992	705196	20.88	90428	8.79	7.80	V	QUINIC ACID	
9	22.088	243473	7.21	95975	9.33	2.54		Patchouli alcohol	
10	28.943	37438	1.11	12071	1.17	3.10	V	N-(2-Acetylcyclopentylidene)cyclohexylamine	
11	30.655	28653	0.85	8721	0.85	3.29	V	Cyclononasiloxane, octadecamethyl-	
12	33.493	33004	0.98	10432	1.01	3.16	V	Furazan-3,4-diol	
13	37.145	51679	1.53	11450	1.11	4.51	V	1,5,9-Decatriene, 2,3,5,8-tetramethyl-	
14	38.963	50313	1.49	15942	1.55	3.16	V	4-Fluoro-1-methyl-5-carboxylic acid, ethyl(ester)	
		3377439	100.00	1028256	100.00				

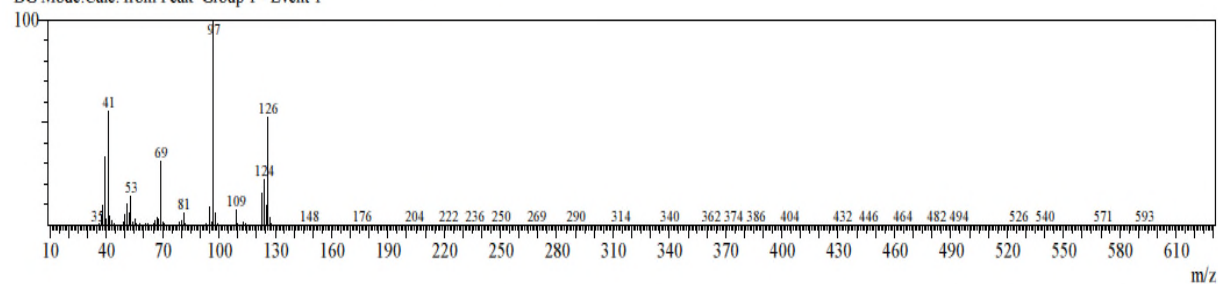
Spektrum 2-Furancarboxaldehyde,5-(hydroxymethyl)–CAS HMF

Line#:4 R.Time:13.515(Scan#:2264)

MassPeaks:393

RawMode:Averaged 13.510-13.520(2263-2265) BasePeak:97(131037)

BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



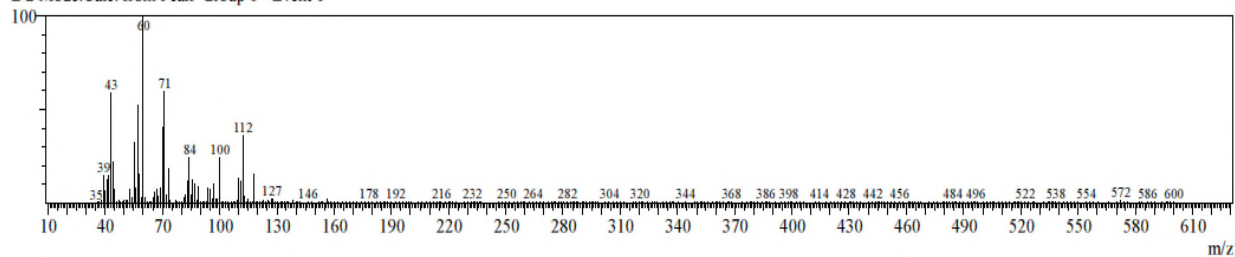
Spektrum Quinic Acid

Line#:8 R.Time:20.990(Scan#:3759)

MassPeaks:393

RawMode:Averaged 20.985-20.995(3758-3760) BasePeak:60(6441)

BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



BAB VI

KESIMPULAN

1. Temperatur ekstraksi yang tinggi dapat mengurangi aktivitas antioksidan
2. Pada kondisi optimum ekstraksi diperoleh aktivitas antioksidan dengan nilai IC₅₀ 7,2mg/L, rendemen 86,8%, kadar flavonoid 147,7 mg per 100 gram ekstrak, kadar fenolik 224,9 mg per 100 gram ekstrak; Kadar klorofil dan vitamin C berturut-turut adalah 10,24 ppm dan 7,7 mg/g ekstrak
3. Dari hasil analisis varian, pada tingkat kepercayaan 95% diketahui bahwa rasio F:S dan temperatur ekstraksi berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan, kadar klorofil total, kadar fenolik total dan kadar flavonoid
4. Hasil analisis dengan gas kromatografi mass spektrometri menunjukkan ekstrak kiwi mengandung *Quinic Acid* dan *2-Furancarboxaldehyde5-(hydroxymethyl)-CAS HMF*

DAFTAR PUSTAKA

- Blois, M.S. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical, *Nature*, 181:1199- 1200.
- Ferguson, A.R. (ed.). 1990. *Kiwifruit: Science and Management*. Wellington, New Zealand: New Zealand Society for Horticultural Science, pp. 415-435.
- Hamid, et al. Antioxidants: Its medicinal and pharmacological Applications. *African Journal of Pure and Applied Chemistry* Vol. 4(8), pp. 142-151, August 2010
- Julkunen-Tiitto, R. (1985) Phenolics Constituents in the Leaves of Northern Willows: Methods for the Analysis of Certain Phenolics. *J. Agric. Food Chem.* 33: 213-217.
- Kusumaningati RW. 2009. Analisa Kandungan Fenol Total Jahe (*Zingiber officinale* Rosc.) Secara In vitro. Jakarta: Fakultas Kedokteran. Universitas Indonesia.
- Neeraj Mishra, et al. Antimicrobial, Antioxidant and Chemopreventive Potential of Vitamin C in Rich Fruits. *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology*. Volume: I: Issue-3: Nov 2010
- Shahidi F, Wanasundara PK (1992) Phenolic antioxidants. *Crit Rev Food Sci Nutr* 32:67-103.
- Sherry Kao, Ming-Wei. 2006. A Comparative Study of Antioxidant and Physicochemical Properties of Blackberry and Kiwifruit. Auburn, Alabama.
- Sri, Pains Widyawati, dkk. Pengaruh Ekstraksi dan Fraksinasi Terhadap Kemampuan Menangkap Radikal Bebas DPPH Ekstrak dan Fraksi Daun Beluntas (*Pluchea indica* Less). Seminar Rekayasa Kimia dan Proses. 2010
- Windono, T., Soediman, S., Yudawati, U., Ermawati, E., Srielita, Erowati, T. I. Uji Peredam Radikal Bebas terhadap 1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl (DPPH) dari Ekstrak Kulit Buah dan Biji Anggur (*Vitis vinifera* L.) Probolinggo Biru dan Bali. *Artocarpus*. 2001, 1, 34-43
- Yanhoy Lee, dkk 2011. Antioxidant and Glycation Inhibitory Activities of Gold Kiwifruit, *Actinidia chinensis*. *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.* 54(3), 460-467